

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

AN

HU 73531 T 19960828 HU 953015 A 19951019 A61K-009/127 199647
BR 9504463 A 19970520 BR 954463 A 19951019 A61K-009/127 199726
CN 1130060 A 19960904 CN 95118730 A 19951020 A61K-009/127 199751
IT 1270678 B 19970507 IT 94MI2142 A 19941020 A61K-000/00 199801
US 5741515 A 19980421 US 95542752 A 19951013 A61K-009/127 199823
AU 698915 B 19981112 AU 9534273 A 19951016 A61K-031/215 199906

Priority Applications (No Type Date): IT 94MI2142 A 19941020

Cited Patents: 2.Jnl.Ref; EP 56781; GB 2041871

Patent Details:

Patent Kind Lan Pg Filing Notes Application Patent

EP 707847 A1 G 7

Designated States (Regional): AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU MC
NL PT SE

ZA 9508844 A 12

JP 8208466 A 5

US 5741515 A 4

AU 698915 B Previous Publ. AU 9534273

Abstract (Basic): EP 707847 A

The prepn. of ketoprofen liposomes comprises adding a mixt. of ketoprofen and phospholipids or nonionic amphiphiles to a soln. of pH 6-8 and then reducing the pH of this soln. to below 6 to cause spontaneous formation of liposomes which are opt. converted to semi-solid and liquid preps. with conventional auxiliaries.

USE - The liposomes are a delivery vehicle for the drug ketoprofen which is a non-steroidal antirheumatic drug which can also be used in the therapy of inflammation.

ADVANTAGE - The method does not require the use of organic solvents or detergents which must later be removed. Nor does it require energy-expensive comminution.

Dwg. 0/0

Title Terms: PREPARATION; KETOPROFEN; LIPOSOME; REDUCE; PH; MIXTURE; KETOPROFEN; PHOSPHOLIPID; NONIONIC; AMPHIPHILIC; BELOW; CAUSE; SPONTANEOUS; FORMATION; LIPOSOME

Derwent Class: B05; B07

International Patent Class (Main): A61K-000/00; A61K-009/127; A61K-031/19; A61K-031/215

International Patent Class (Additional): A61K-047/12; A61K-047/14; A61K-047/24; A61K-047/34; A61K-047/44; C07C-000/00

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B10-C04B; B12-M11F; B14-C03; B14-C06

Chemical Fragment Codes (M2):

01 B415 B515 B702 B712 B720 B794 B819 B831 G037 G563 H100 H181 H402
H405 H464 H482 H721 H722 J0 J012 J013 J171 J2 J272 K920 M210 M211
M212 M213 M214 M215 M216 M220 M221 M222 M223 M224 M225 M226 M231
M232 M233 M262 M273 M282 M283 M312 M313 M321 M322 M332 M342 M343
M349 M381 M383 M391 M392 M411 M431 M510 M520 M530 M540 M541 M620

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 707 847 A1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:

24.04.1996 Patentblatt 1996/17

(51) Int. Cl.⁶: **A61K 9/127, A61K 31/19**

(21) Anmeldenummer: **95115899.7**

(22) Anmeldetag: **09.10.1995**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU MC NL
PT SE**

(30) Priorität: **20.10.1994 IT MI942142**

(71) Anmelder: **BAYER AG**

D-51368 Leverkusen (DE)

(72) Erfinder:

- Ciceri, Silvana, Dr.
I-22100 Como (IT)
- Hamann, Hans-Jürgen, Dr.
D-41539 Dormagen (DE)
- Hümer, Ingrid
D-40479 Düsseldorf (DE)
- Kurka, Peter, Dr.
D-40723 Hilden (DE)
- Maasz, Joachim, Dr.
Granger, IN 46530 (US)

(54) **Ketoprofen Liposomen**

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft ein Ketoprofen-Liposomen-Gel und ein Verfahren zu seiner Herstellung, das sich durch eine einfache Darstellungsweise durch spontane Bildung von Liposomen aus Phospholipiden und Ketoprofen auszeichnet.

EP 0 707 847 A1

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Ketoprofen-Liposomen-Gel und ein Verfahren zu seiner Herstellung, das sich durch eine einfache Darstellungsweise durch spontan Bildung von Liposomen aus Phospholipiden und Ketoprofen auszeichnet.

Ketoprofen ist ein arzneilich wirksamer Stoff aus der Gruppe der Nicht-Steroidalen Antirheumatika vom Typ der Arylpropionsäuren. Die Nicht-Steroidalen Antirheumatika werden sowohl innerlich als auch äußerlich zur Therapie von Entzündungen eingesetzt, wobei insbesondere die lipophilen Vertreter dieser Wirkstoffklasse für die topische Applikation geeignet sind. Ein Problem der Applikation von Arzneistoffen ist die schlechte Penetrierbarkeit der Haut für viele Arzneistoffe, so daß oftmals die notwendigen therapeutischen Spiegel im Gewebe nicht erreicht werden. Daher wird vielfach versucht durch Einschluß der Wirkstoffe in Liposomen die Penetrierbarkeit ins Gewebe durch das Stratum-Corneum zu verbessern.

Liposomen werden aus Phospholipiden gebildet, die sich in einer oder mehreren konzentrischen Schichten zu kugelförmigen flüssig-kristallinen Partikeln zusammenlagern. Die Größe von Liposomen variiert je nach Herstellungsart und Typus von ca. 80 nm bis 100 µm. Man klassifiziert Liposomen durch ihre Größe und durch die Anzahl der Phospholipidschichten, wobei zwischen unilamellar und multilamellar, evtl. nur oligolamellar unterschieden wird.

Phospholipide sind amphiphile Substanzen, d.h. sie besitzen sowohl einen hydrophilen Molekülteil, meist einen mit einer quartären Ammoniumverbindung substituierten Phosphorsäureester und einen lipophilen Molekülteil der zumeist aus gesättigten und ungesättigten Fettsäuren besteht. Durch diese Eigenschaften besteht, wie bei allen Tensiden, die Tendenz sich in wäßrigen Systemen zu Assoziaten zusammenzulagern, um die Energie des Systems zu verringern. Phospholipide neigen dazu sich zu Doppelschichten zusammenzulagern, wobei die lipophilen Molekülteile zueinander orientiert sind und diese Doppelschichten durch wäßrige Kompartimente getrennt sind. Diese Doppelschichten können sich nun konzentrisch zu kugelförmigen Gebilden, Liposomen, anordnen. Liposomen bestehen entweder aus einer, oder mehreren Phospholipid-Doppelschichten, in die entweder hydrophile Substanzen in die wäßrigen Kompartimente, oder lipophile Substanzen in die Doppelschichten eingelagert werden.

Da die Phospholipide, aus denen Liposomen gebildet werden, zum Teil den physiologischen Membranlipiden und Lipidsubstanzen der Hornhaut entsprechen oder diesen sehr ähnlich sind, wird insbesondere topischen Liposomen eine größere Penetrationsfähigkeit durch die Haut zugesprochen. Dies trifft insbesondere für entzündete Haut zu, in die Liposomen gut eindringen können (H.E. Junginger et al, Cosm. Toiletr., 45-50, 1991).

Niosomen sind Vesikel von derselben Struktur wie die Liposomen, die jedoch aus nicht-ionischen Amphiphilen, wie mit Fettsäuren verethernten oder veresterten Polyoxyethylenen oder beispielsweise Fettsäure-Saccharosediestern gebildet werden.

Es wurden schon mannigfaltige Versuche gemacht Liposomenformulierungen auch von Nicht-Steroidalen Antirheumatika herzustellen, jedoch wird bei diesen Herstellungsverfahren immer mit einem hohen Energieaufwand gearbeitet, um eine ausreichende Partikelgröße zu erreichen oder es müssen organische Lösungsmittel oder Detergenzien eingesetzt werden, die im Anschluß aus der Formulierung wieder entfernt werden müssen. Ein Beispiel dafür bietet EP 0 249 561, worin Methoden und Zusammensetzung von Formulierungen in denen Nicht-Steroidale Antirheumatika in Liposomen eingeschlossen sind beschrieben werden. Das Patent beansprucht Liposomen zur oralen Anwendung und magensaftresistente Liposomen, das Herstellungsverfahren zur Darstellung dieser Liposomen entspricht jedoch den üblichen Methoden, d.h. die Phospholipide werden in einer organischen Phase gelöst, die im Anschluß wieder entfernt werden muß.

Übliche bekannte Herstellungsmethoden für Liposomen seien kurz aufgeführt:

1. Hydrationsmethode

Ein Phospholipidgemisch wird in einem Glaskolben eingedampft, so daß sich ein dünner Lipidfilm an der Wandung ausbildet. Dieser Film wird dann mit einer Pufferlösung befeuchtet und geschüttelt, wobei sich spontan Liposomen ausbilden. Kritische Parameter bei diesem Prozeß sind die Lipidfilmdicke, das Volumen der Pufferlösung sowie die Dauer und Intensität der Bewegung. Die hierbei entstehenden, meist multilamellaren Liposomen können durch Ultraschall oder die sogenannte French Press noch weiter verkleinert werden.

2. Ultraschallmethode

Die Phospholipide werden in Wasser dispergiert und danach durch mechanische Belastung, in diesem Falle Ultraschall zerkleinert. Alternativ können die Liposomen auch durch Druckbelastung in einem geeigneten Extruder (French Press) aus Dispersionen dargestellt werden.

3. Lösungsmittel-Injektionsmethode

Die Phospholipide werden in einem geeigneten organischen Lösungsmittel gelöst (Ether, Methanol und Gemische) und diese Lösung in warmes Wasser eingespritzt, in dem der einzuschließende Stoff gelöst vorliegt. Nach Abzug des Lösungsmittels im Vakuum bilden sich zumeist unilamellar Vesikel aus.

4. Detergenzien-Methode

Eine wäßrige Mischmizellösung aus Phospholipiden, einem Detergenz und der einzuschließenden Substanz wird hergestellt und das Detergenz im Anschluß durch Dialyse, Säulenchromatographie oder ander geeignete Verfahren abgetrennt.

5. Reverse Phase Evaporation Method

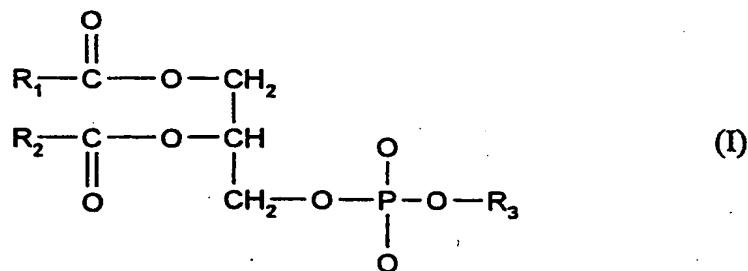
Im Überschuß der organischen Phase wird mit einem Puffer, den Phospholipiden und den einzuschließenden Substanzen eine Wasser-in-Öl-Emulsion hergestellt und dann die organische Phase im Vakuum abgedampft. Am Ende des Verdampfungsvorgangs kommt es zu einer Phasenumkehr und es bildet sich eine Suspension von großen unilamellaren Liposomen.

Diese Methoden sind in ihrer technischen Durchführung alle, entweder bei mechanischer Darstellung der Liposomen mit einem hohen Energieaufwand, oder bei den Methoden mit Lösungsmitteln oder Detergenzien mit einem hohen Reinigungsaufwand des Produktes, verbunden. Es besteht daher der Wunsch nach einer einfachen Darstellung solcher Systeme.

Überraschend wurde gefunden, daß sich Ketoprofen-Liposomen äußerst einfach durch Mischen von Ketoprofen mit Phospholipiden bei pH-Werten über 6, vorzugsweise 6 bis 8, und anschließende pH-Senkung auf Werte unter 6, vorzugsweise 4 bis 6, darstellen lassen. Das Natriumsalz des Ketoprofens besitzt durch die deprotonierte Carboxylgruppe amphiphilen Charakter und lagert sich mit den Phospholipiden zusammen und es entstehen Mischmizellen aus dem eingesetzten Phospholipid und dem Ketoprofen-Salz. In diese Mischmizellen ist die noch vorliegende freie Säure, das Ketoprofen, inkorporiert. Bei Verdünnung dieser alkalischen Mischmizellösung mit einer geeigneten Pufferlösung senkt sich der pH-Wert der Lösung auf einen Wert unter 6, der Anteil des deprotonierten Ketoprofens verringert sich. Dadurch wird die Mischmizellmembran destabilisiert und es kommt zur spontanen Bildung von Liposomen. Entscheidend ist dabei insbesondere, daß nicht wie bei vielen anderen Herstellungsverfahren für Liposomen mit organischen Lösungsmitteln (reverse phase evaporation method) oder Detergenzien, die aus der Formulierung entfernt werden müssen (Detergent removal method) oder energieaufwendigen Zerkleinerungsmethoden (Hydration method, sonication method, French press etc.) gearbeitet werden muß. Die Formulierung enthält sowohl das entsprechende Salz des Ketoprofens, als auch die freie Säure, das Ketoprofen. Die Partikelgrößen liegen im Bereich von 80 bis 200 nm.

Geeignete Phospholipide sind die natürlichen Phospholipide, Sphingolipide, Glycosphingolipide, sowie synthetische Phospholipide wie Dipalmitoylphosphatidylcholin-, -serin-, -ethanolamin-glycerol oder die entsprechenden Ölsäureester dieser Verbindungen.

Besonders geeignet sind natürliche und synthetische Phospholipide, die der allgemeinen Formel (I)



entsprechen sowie deren Mischungen, wobei R_1 und R_2 Alkylreste und/oder einfach- bis vierfach ungesättigte Alkenylgruppen mit 10 bis 23, vorzugsweise 13 bis 21 C-Einheiten bedeuten und R_3 aus der folgenden Gruppe stammt:

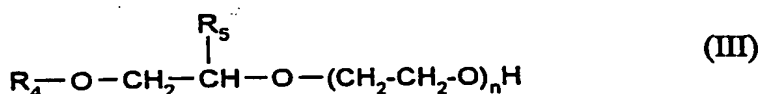
- OH,
- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$,
- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$,
- $\text{CH}_2\text{CHNH}_3^+\text{COO}^-$,
- $\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$,
- $\text{HC}_6\text{H}_5(\text{OH})_5$.

Geeignete nicht-ionische Amphiphile sind vor allem mit Fettsäuren veresterte oder veretherte Polyoxyethylene und Saccharosediester, die zur Bildung von Niosomen geeignet sind.

Bevorzugte nicht-ionische Amphiphile sind Verbindungen der Formeln



und



wobei R_4 und R_5 gleich oder verschieden sind und jeweils für Alkyl oder Alkenyl mit 12 bis 16 C-Atomen stehen und n für eine Zahl von 3 bis 25 steht.

Geeignete Gelbildner sind die dem Fachmann bekannten Hydrogelbildner, wie derivatisierte Cellulosen, Polyvinylpyrrolidone, Polyacrylate und andere synthetische Hydrokolloide, sowie natürliche Gelbildner wie Agar, Gummen, Glykan, Alginate, Gelatine und andere Polysaccharid- und Protein-Hydrokolloide und Blockcopolymere des Polyoxyethylens und Polyoxypropylens.

Als übliche Hilfsstoffe seien insbesondere genannt Konservierungsmittel, Antioxidantien, Farbstoffe und andere Stoffe die zur mikrobiellen und chemischen Stabilisierung der Formulierung dienen.

Erfindungsgemäße Ketoprofen-Liposomen-Gele werden z.B. durch Einarbeiten von Ketoprofen-Phospholipid-Mischmizellen in bestimmte Hydrogele hergestellt. Dazu wird zunächst Ketoprofen in 1N-NaOH-Lösung gelöst und in diesem Medium durch Einarbeiten eines Phospholipids, insbesondere der Formel (I) eine Mischmizelldispersion hergestellt. Geeignete Phospholipide sind natürliche und synthetische Phospholipide, die ungesättigte und gesättigte Fettsäuren enthalten können (Beispiele: Phospholipon®90, Lipoid® E 80, Lipoid® E 100, Lipoid® S 100, Lipoid® E PC, Epikuron® 200 SH).

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

Herstellung der Mischmizelllösung

Ketoprofen	18,62 g
Phospholipon®90	17,11 g
1N-NaOH-Lösung	100,0 g

Ketoprofen wird in der Natronlauge gelöst. Anschließend wird die Lösung auf 90°C erhitzt, und das Phospholipid darin über 90 Minuten dispergiert. Es entsteht eine klare gelbe Mischmizelldispersion mit einem pH-Wert über 6. Die Mischmizelllösung wird in folgendes Hydrogel eingearbeitet:

Lutrol® F 127	18,00 %
Pufferlösung pH 5	63,58 %
Cremophor® RH 40	5,00 %
Mischmizelldispersion	13,42 %

Durch das Verdünnen der Mischmizelllösung mit dem Hydrogel bildet sich ein stabiles Ketoprofen-Liposomen-Gel. Die Konzentration von Ketoprofen im Gel beträgt 2,5 %.

Beispiel 2

Die Mischmizellösung aus Beispiel 1 wird in folgende Hydrogel eingearbeitet:

Polyacrylsäure	1,00 %
Pufferlösung pH 5	80,33 %
Cremophor® RH 40	5,00 %
Mischmizelldispersion	13,42 %

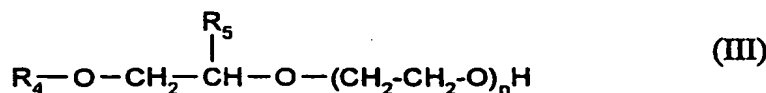
Durch das Verdünnen der Mischmizellösung mit dem Hydrogel bildet sich ein stabiles Ketoprofen-Liposomen-Gel.
Die Konzentration von Ketoprofen im Gel beträgt 2,5 %.

Patentansprüche

- Verfahren zur Herstellung von Ketoprofen-Liposomen, dadurch gekennzeichnet, daß eine Mischung von Ketoprofen und Phospholipiden oder nicht-ionischen Amphiphilen in eine Lösung mit einem pH-Wert von 6 bis 8 gegeben wird und in dieser Lösung anschließend der pH-Wert auf Werte unter 6 abgesenkt wird, wobei es zur spontanen Bildung von Liposomen kommt, welche gegebenenfalls mit üblichen Hilfsstoffen in halbfeste und flüssige Zubereitungen überführt werden.
- Verfahren zur Herstellung von Ketoprofen-Liposomen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man als nicht-ionische Amphiphile Verbindungen der allgemeinen Formeln (II) bzw. (III) einsetzt

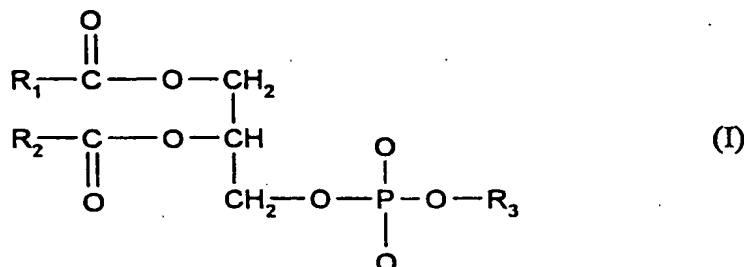


und



wobei R_4 und R_5 gleich oder verschieden sind und jeweils für Alkyl oder Alkenyl mit 12 bis 16 C-Atomen stehen und n für eine Zahl von 3 bis 25 steht.

- Arzneizubereitungen enthaltend Ketoprofen-Liposomen die aus Phospholipiden der allgemeinen Formel (I)



wobei R_1 und R_2 Alkylreste und/oder einfach- bis vierfach ungesättigte Alkenylgruppen mit 10 bis 23, vorzugsweise 13 bis 21 C-Einheiten bedeuten und R_3 aus der folgenden Gruppe stammt:

-OH,
-CH₂CH₂N⁺(CH₃)₃,
-CH₂CH₂NH₃⁺.

-CH₂CHNH₃⁺COO⁻,
 -CH₂CHOHCH₂OH,
 -HC₆H₅(OH)₅.

sowie deren Mischung n und Ketoprofen und/oder Ketoprofen-Natriummischmizellen und gegebenenfalls weiteren
 üblichen Hilfsstoffen aufgebaut sind.

4. Arzneizubereitungen gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß di Ketoprofen-Liposomen in Hydrogele
 eingearbeitet sind.



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 95 11 5899

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
X	GB-A-2 041 871 (FARMITALIA CARLO ERBA S.P.A.) * Seite 2; Beispiel 2 *	3,4	A61K9/127 A61K31/19
P,A	JOURNAL OF MICROENCAPSULATION, Bd. 12, Nr. 4, Juli 1995 LONDON (GB), Seiten 401-407, XP 000510960 C.P. JAIN ET AL. 'PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF NIOSOMES CONTAINING RIFAMPICIN FOR LUNG TARGETING' * Seite 401, Absatz 4 *	2	
A	EP-A-0 056 781 (WEDER ET AL.) * Seite 24; Beispiel 4 *	1,2	
A	DIE PHARMAZIE, Bd. 49, Nr. 2/3, Februar 1994 ESCHBORN (DE), Seiten 187-191, XP 000425029 K. KRIWET ET AL. 'MUTUAL INTERACTIONS BETWEEN DICLOFENAC DIETHYLAMINE AND PHOSPHOLIPIDS- INVESTIGATIONS ON THE MICROSTRUCTURE OF THE ARISEN SYSTEMS' * das ganze Dokument *	1,2	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)
			A61K
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenart		Abschlußdatum der Recherche	
DEN HAAG		19. Januar 1996	
		Prüfer	
		Benz, K	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
<p>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur</p> <p>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument</p> <p>⌘ : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p>			

EPO FORM 1503 01.82 (P04C01)

THIS PAGE BLANK (USPTO)